

ANALISIS KEKERABATAN GENETIK PADA IKAN DEWA (*MAHSEER*) DARI SUNGAI DI PULAU JAWA MENGGUNAKAN GEN COI

Genetic Relationship Analysis of Mahseer Fish from Java Island Rivers using the COI Gene

Nabil Fathi Muyassar*, Yuniar Mulyani, Irfan Zidni, Titin Herawati
Program Studi Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Padjadjaran
Jl. Ir. Soekarno Km. 21, Jawa Barat 45363
Email: nabil21003@mail.unpad.ac.id

ABSTRAK

Ikan dewa (*mahseer*) penting untuk konservasi di Pulau Jawa karena tingginya nilai ekonomis dan ekologis, sehingga diperlukan analisis kekerabatan genetik. Penelitian dilakukan di Sungai Sungapan, Sungai Cimanuk, Curug Tonjong, Curug Cimedang, Sungai Ciwulan, Sungai Serayu, Sungai Progo, Sungai Samin, Sungai Kedung Minten, dan Sungai Brantas di pulau Jawa, bertujuan menganalisis kekerabatan genetik ikan dewa. Metode yang digunakan adalah deskriptif kualitatif dengan pengambilan sampel acak dari sungai di pulau Jawa. Identifikasi molekuler menggunakan gen COI (*Cytochrome Oxidase I*) untuk menganalisis jarak dan kekerabatan genetik, lalu data dianalisis secara deskriptif. Hasil elektroforesis menunjukkan amplicon ± 700 bp dari gen COI untuk semua sampel. Analisis sekuens menggunakan *BOLD System* mengidentifikasi sampel memiliki kemiripan dengan *Tor tambra* dan *Neolissochilus soro*. Analisis genetik menggunakan MEGA11 menunjukkan jarak genetik antara spesies *Tor* sp. dengan spesies *Neolissochilus* sp. sebesar 0,0-3,2%, mengindikasikan perbedaan spesies. *Tor* sp. dari beberapa sungai menunjukkan kekerabatan dekat ($\leq 1\%$) dengan spesies *Tor* lainnya (*T. tambra*, *T. mekongensis*, *T. dongnaiensis*). Namun, *Neolissochilus* sp. dari sungai lain memiliki jarak genetik tinggi (hingga 6%) dengan genus *Neolissochilus* dari GeneBank. Analisis filogenetik memperkuat hasil ini, mengelompokkan sampel menjadi dua kluster monofiletik yang berbeda secara genetik, yaitu kluster *Tor* sp. yang berkerabat dekat dengan *T. tambra*, dan kluster *Neolissochilus* sp. yang terpisah dan berkerabat jauh dengan spesies *Neolissochilus* lain yang tersedia di GeneBank.

Kata kunci: Ikan Dewa; Kekerabatan Genetik; COI; Jarak Genetik; Monofiletik

ABSTRACT

The mahseer is important for conservation on Java Island due to its high economic and ecological value, thus requiring genetic kinship analysis. The research was conducted in the Sungapan River, Cimanuk River, Curug Tonjong, Curug Cimedang, Ciwulan River, Serayu River, Progo River, Samin River, Kedung Minten River, and Brantas River on the island of Java, aimed at analyzing the genetic relationships of the sacred fish. The method used was descriptive qualitative with random sampling from rivers in Java. Molecular identification utilized the COI (*Cytochrome Oxidase I*) gene to analyze genetic distance and relatedness, and the data were analyzed descriptively. The electrophoresis results showed an amplicon of approximately 700 bp from the COI gene for all samples. Sequence analysis using the *BOLD System* identified the samples as being similar to *Tor tambra* and *Neolissochilus soro*. Genetic analysis using MEGA11 showed a genetic distance between *Tor* sp. and *Neolissochilus* sp. species of 0.0-3.2%, indicating species differences. *Tor* sp. from several rivers showed close relatedness ($\leq 1\%$) with other *Tor* species (*T. tambra*, *T. mekongensis*, *T. dongnaiensis*). However, *Neolissochilus* sp. from other rivers exhibited a high genetic distance (up to 6%) with the *Neolissochilus* genus from GeneBank. Phylogenetic analysis reinforced these results, clustering the samples into two genetically distinct monophyletic clusters, namely the *Tor* sp. cluster closely related to *T. tambra*, and the *Neolissochilus* sp. cluster, which is separate and distantly related to other *Neolissochilus* species available in GeneBank.

Keywords: Mahseer; Genetic relationship; COI; Genetic Distance; Monophyletic

PENDAHULUAN

Ikan dewa (*mahseer*) adalah spesies ikan air tawar dari famili Cyprinidae yang sangat bermanfaat bagi ekonomi dan lingkungan di Asia Tenggara, termasuk di Indonesia. Ikan ini merupakan ikan dengan nilai ekonomis tinggi karena memiliki rasa yang sangat enak dan mempunyai harga yang tinggi. Namun akibat dari penangkapan ikan yang berlebihan, kerusakan habitat, dan gangguan ekologis lainnya yang disebabkan oleh tindakan manusia membuat populasi ikan dewa

di alam liar semakin terancam. Populasi ikan dewa yang semakin terancam dengan berbagai spesies yang memiliki status konservasi dan terdata di IUCN Red list mulai dari data kurang seperti seperti *Tor tambra* (Kottelat *et al.*, 2018), beresiko rendah seperti *Neolissochilus soro* (Lumbantobing, 2021), hingga kritis seperti *Tor remadevii* (Pinder *et al.*, 2018). Saat ini ada 49 spesies ikan *mahseer* yang sudah teridentifikasi dimana 17 spesies berasal dari genus *Tor* dan 32 spesies berasal dari genus *Neolissochilus* (Wu *et al.*, 2024). Penelitian tentang identifikasi molekuler ikan dewa sangat penting untuk program

konservasi dan pengelolaan sumber daya ikan yang berkelanjutan di Indonesia karena Pulau Jawa adalah lokasi utama yang menyimpan keanekaragaman genetik ikan dewa (Lim *et al.*, 2021).

Spesies ikan ini secara lokal dikenal sebagai ikan keureling, Mulai dari Sumatera empat spesies *Tor* meliputi *Tor tambroides*, *Tor douronensis*, *Tor tambra*, dan *Tor soro* yang sekarang diklasifikasikan sebagai *Neolissochilus soro*, tercatat sebagai penghuni daerah ini. Beberapa penelitian menunjukkan *Tor tambroides* di Sungai Manna dan Tarusan di bagian barat Sumatera dan Sungai Bahorok dan Sungai Berkail. Sementara itu survei yang dilakukan di sistem sungai Batang Toru, Tapanuli Selatan, Sumatera Utara, telah menunjukkan beberapa spesies *Tor*, yaitu *Tor tambra*, *Tor douronensis*, dan *Tor tambroides* (Roesma *et al.*, 2016). Meskipun *Tor douronensis* telah tergolong sebagai spesies yang tidak *valid*, spesies ini telah banyak dipelajari di Indonesia dan ditemukan tersebar luas di beberapa sungai di Sumatera, yaitu Sungai Batang Gumanti, Sungai Batang Antokan, Sungai Batang Malalo, Sungai Batang Matur, Sungai Batang Sinurui, dan Sungai Lubuk Mangkuhi (Melda *et al.*, 2017). Di Kalimantan, *Tor tambroides* telah dilaporkan hidup di sungai Gunung Muller Kalimantan Tengah dan juga ditemukan di hulu sungai Sembakung Kalimantan Utara dan anak Sungai Mahakam hulu Kalimantan Timur, sedangkan *Tor tambra* ditemukan di Sungai Ela Hulu Kalimantan Barat (Haryono, 2008; Sawestri & Marini, 2021; Jusmaldi *et al.*, 2019; Pardosi *et al.*, 2023).

Studi mengenai identifikasi molekuler ikan dewa di Pulau Jawa masih sangat terbatas. Padahal, riset semacam ini sangat penting untuk mengevaluasi keragaman dan kekerabatan genetik sebagai dasar kebijakan konservasi. Struktur genetik populasi ikan telah banyak dipahami melalui penggunaan analisis genetik seperti marker DNA mitokondria seperti COI dan *Cytb*. Gen COI digunakan sebagai penanda standar untuk *DNA Barcoding* dalam membedakan spesies karena urutan nukleotidanya memiliki kombinasi sifat yang konservatif dengan sedikit variasi. Sifat ini memungkinkan gen COI berfungsi sebagai penanda yang andal untuk identifikasi dan pengelompokan spesies pada berbagai tingkatan taksonomi hewan (Leatemia *et al.*, 2018; Rodrigues *et al.*, 2017). Variasi genetik dalam populasi dapat menunjukkan strategi konservasi yang lebih baik. Oleh karena itu metode ini sangat berguna untuk menemukan unit manajemen konservasi yang relevan (Wibowo & Kaban 2015). Penanda genetik juga dapat menunjukkan seberapa jauh populasi ikan dewa terisolasi di suatu daerah. Ini adalah komponen penting dalam merencanakan tindakan perlindungan lokal dan regional.

Penelitian ini sangat penting dan bermanfaat untuk pengelolaan konservasi, khususnya karena ikan dewa berfungsi sebagai spesies indikator kesehatan ekosistem perairan di Pulau Jawa. Informasi mengenai variasi genetik ikan dewa akan membantu dalam merancang kebijakan konservasi yang berbasis bukti, termasuk penentuan unit manajemen konservasi (*Conservation Management Units*) yang relevan dan berkontribusi pada pemeliharaan keanekaragaman hayati perairan di Indonesia secara keseluruhan (Jaafar *et al.*, 2021). Secara keseluruhan hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan dasar ilmiah untuk strategi pelestarian ikan dewa di Pulau Jawa, dengan mengidentifikasi genetik yang ada di antara populasi-populasi lokal. Pendekatan berbasis bukti seperti ini akan mendukung upaya konservasi yang lebih holistik dan

efektif, memastikan keberlanjutan populasi ikan dewa yang tersebar di pulau jawa di masa depan. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kekerabatan genetik ikan dewa dari sungai pulau jawa menggunakan COI.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Molekuler Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjadjaran. Riset ini dilaksanakan pada bulan Februari sampai April 2025.

Pengambilan Sampel

Pengambilan Sampel dilakukan secara *Random sampling* pada beberapa lokasi habitat ikan dewa yang tersebar di pulau Jawa seperti pada peta riset Gambar 1. meliputi Sungai Sungapan, Sungai Cimanuk, Curug Tonjong, Curug Cimedang, Sungai Ciwulan, Sungai Serayu, Sungai Progo, Sungai Samin, Sungai Kedung Minten, dan Sungai Brantas. Sampel yang diambil mewakili genus *Tor* dan *Neolissochilus* berdasarkan keberadaan *lobus median* yang merupakan identifikasi morfologi awal di lapangan untuk membedakan antara genus *Tor* dan *Neolissochilus* (Desrita *et al.* 2018).

Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam riset ini merupakan deskriptif kualitatif yang meliputi isolasi DNA sampel menggunakan *High Pure PCR Template Preparation Kit by roche*, lalu dilanjutkan mengamplifikasi DNA dengan metode *Cytochrome Oxidase Subunit I* menggunakan *Forward primer F1* 5'TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC'3 dan *Reverse primer R1* 5'TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA'3. Amplifikasi dilakukan menggunakan PCR *SenzoQuest Lab Cycler* dengan kondisi PCR berdasarkan Steinke & Heiner (2011) dan Larashati *et al.* (2025): pra-denaturasi pada suhu 95°C selama 2 menit kemudian dilanjutkan oleh 35 siklus denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, *annealing* pada suhu 52°C selama 60 detik, *extension* pada suhu 72°C selama 60 detik, dan *post extension* pada suhu 72°C selama 10 menit, lalu pendinginan pada suhu 4°C, hasil PCR divisualisasikan dengan elektroforesis, dan hasil yang didapat dilakukan *sequencing* yang berlokasi di *1_{st} Base* malaysia.

Hasil *sequencing* yang diperoleh kemudian dilakukan *Bioedit Contig* menggunakan software *Bioedit* kemudian hasilnya dimasukkan ke dalam pencarian kesamaan untuk identifikasi spesies menggunakan *identification V4* di *BOLD System* dan dengan rentang kesamaan 97%-100%, 92%-96%, dan ≤ 91% antara sampel dan sekuens database yang dikategorikan sebagai signifikan, moderat, dan tidak signifikan (Bhattacharjee *et al.*, 2012). *GenBank* juga diperlukan untuk mendapatkan data spesies pembanding lainnya. Urutan nukleotida yang diperoleh dari sampel dan *BOLD system* dan *GeneBank* diselaraskan oleh ClustalW menggunakan software Mega versi 11 (Kumar *et al.*, 2018). Software Mega 11 digunakan untuk membangun pohon filogenik *Maximum Likelihood* menggunakan spesies *golden cobra snakehead* (*Channa aurantimaculata/CA*) sebagai spesies outgrup, selanjutnya kepercayaan filogenetik dilakukan *bootstrapping*

menggunakan 1000 kali data replikasi dan jarak genetik antar spesies dihitung menggunakan jarak Tamura-Nei (1993).

Parameter Penelitian

Parameter penelitian yang diamati meliputi identifikasi molekuler menggunakan gen COI meliputi analisis

ukuran ampikon, persentase kemiripan hasil sekuensing dengan database *Bold system*, dan analisis jarak genetik serta kekerabatan genetik melalui pohon filogenik ikan dewa dari Sungai Sungapan, Sungai Cimanuk, Curug Tonjong, Curug Cimedang, Sungai Ciwulan, Sungai Serayu, Sungai Progo, Sungai Samin, Sungai Kedung Minten, dan Sungai Brantas.

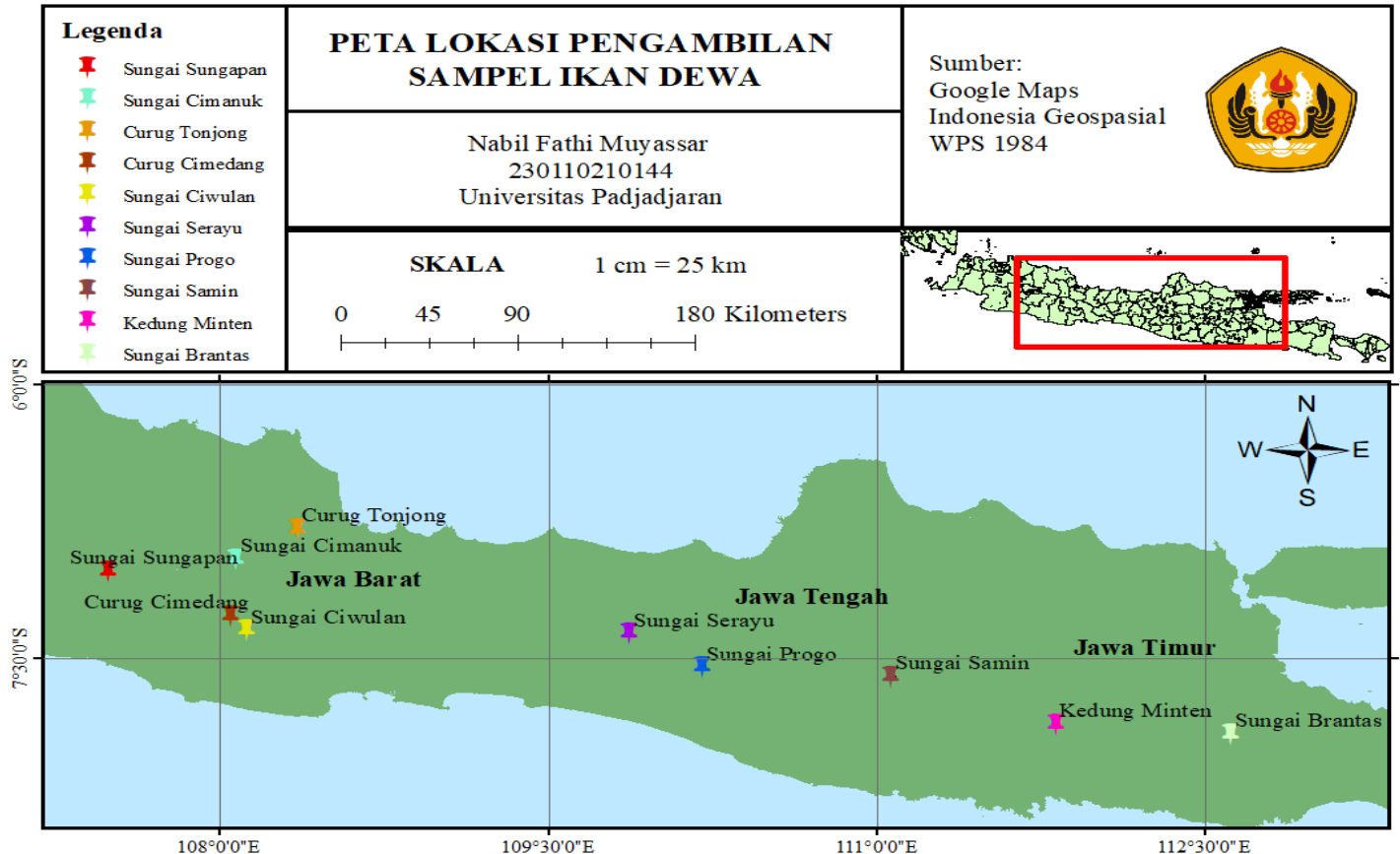


Figure 1. Location Map of Sample Collection
Gambar 1. Peta Lokasi Pengambilan Sampel

Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian yang dilakukan berupa isolasi DNA, amplifikasi DNA dengan teknik *DNA Barcoding* menggunakan *Cytochrome Oxidase Subunit I*, elektroforesis, *sequencing* DNA, dan analisis data.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian menunjukkan bahwa ikan dewa dari sepuluh sampel sungai di Pulau Jawa yang dianalisis menggunakan gen COI memiliki dua kelompok besar yaitu genus *Tor* dan *Neolissochilus*. Genus *Tor* teridentifikasi dari Sungai Cimanuk, Sungai Progo, Sungai Kedung Minten, dan Sungai Brantas, sedangkan genus *Neolissochilus* dari Sungai Sungapan, Curug Tonjong, Curug Cimedang, Sungai Ciwulan, Sungai Serayu, dan Sungai Samin.

Hasil Amplifikasi DNA Ikan Dewa

Hasil amplifikasi DNA ikan dewa menggunakan gen COI dapat dilihat pada Gambar 2. Tidak adanya pita ganda atau amplifikasi non-spesifik mengindikasikan bahwa kualitas

DNA *template* dan kondisi PCR sudah optimal, sehingga sampel dinyatakan layak untuk tahap sekuensing.

Berdasarkan hasil elektroforesis pada Gambar 2. yang menggunakan penanda 1 kb DNA *ladder* sebagai pembanding ukuran pita DNA, semua sampel ikan dewa memiliki ukuran pita sebesar ± 700 bp, ukuran ini sesuai dengan panjang sekuens COI yang umum digunakan dalam DNA *barcoding*. Ukuran Pita ini konsisten dengan penelitian sebelumnya, yang melaporkan ukuran pita gen COI berkisar antara 650-655 bp pada ikan dewa dari lokasi lain seperti Sungai Bonan Dolok, Sungai Alas, dan Sungai Batang Tarusan (Larashati *et al.*, 2022; muchlisin *et al.*, 2022; Wibowo, 2012). Adanya perbedaan ukuran ini wajar dan bisa disebabkan oleh perbedaan primer atau variasi genetik antar populasi.

Persentase Kemiripan Hasil Sekuensing

Hasil analisis sekuens gen COI menggunakan *identification V4* di BOLD System menunjukkan bahwa semua sampel ikan dewa memiliki tingkat kemiripan yang tinggi (97-100%) dengan spesies di dalam database (Tabel 1).

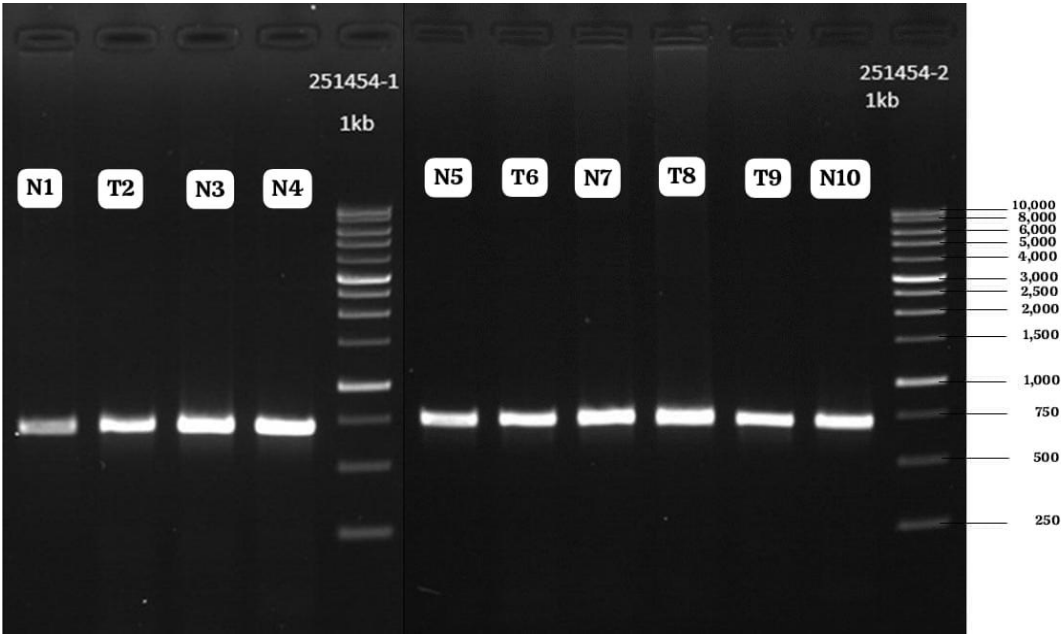


Figure 2. Results of DNA Amplification of the Mahseer Fish

Gambar 2. Hasil Amplifikasi DNA Ikan Dewa

Table 1. Comparison of the Sequence Results With the BOLD System

Tabel 1. Perbandingan Nilai Hasil Sekuens dengan BOLD System

No	Kode Sampel	Hasil pencarian Kesamaan	Nilai Persentase
1.	N1	<i>Neolissochilus soro</i>	98,72%
2.	T2	<i>Tor tambra</i>	100,0%
3.	N3	<i>Neolissochilus soro</i>	99,00%
4.	N4	<i>Neolissochilus soro</i>	99,18%
5.	N5	<i>Neolissochilus soro</i>	99,17%
6.	T6	<i>Tor tambra</i>	99,83%
7.	N7	<i>Neolissochilus soro</i>	99,34%
8.	T8	<i>Tor tambra</i>	100,0%
9.	T9	<i>Tor tambra</i>	99,83%
10.	N10	<i>Neolissochilus soro</i>	99,34%

Keterangan : N: *Neolissochilus*, T: *Tor*, 1: S. Sungapan, 2: S. Cimanuk, 3: C. Tonjong, 4: S. Ciwulan, 5: S. Serayu, 6: S. Progo, 7: S. Samin, 8: S. Kedung Minten, 9: S. Brantas, 10: C. Cimedang

Berdasarkan Tabel 1., dapat dilihat bahwa hasil analisis kesamaan genetik mengidentifikasi dua spesies yang berbeda. Sampel N1 menunjukkan nilai persentase terkecil (98,72%) dengan *Neolissochilus soro*, sementara sampel T2 dan T8 memiliki nilai terbesar (100%) dengan *Tor tambra*. Hasil yang didapatkan menunjukkan rentang kesamaan 97%-100% yang menandakan semua sampel memiliki kesamaan yang tinggi dengan pencocokan spesies dari *BOLD System database* sesuai dengan Bhattacharjee *et al.* (2012) dan Larashati *et al.* (2022).

Jarak Genetik

Analisis jarak genetik dilakukan untuk mengukur perbedaan genetik antar sampel menggunakan model *Tamura-Nei* (Tamura & Nei, 1993) untuk mengidentifikasi spesies 10 sampel ikan dewa secara akurat.

Table 2. Genetic Distance Between the Samples of the Mahseer Fish With the Tamura-Nei model (%)

Tabel 2. Jarak Genetik Antar Sampel Ikan Dewa dengan Model Tamura-Nei (%)

Nama Sampel	N10	N7	N5	N4	N3	N1	T9	T8	T6	T2
N10										
N7	0									
N5	0,2	0,2								
N4	0,2	0,2	0,3							
N3	0,3	0,3	0,5	0,5						
N1	0,9	0,9	1,0	1,0	1,2					
T9	2,8	2,8	0,3	3,0	3,2	3,0				
T8	2,6	2,6	2,8	2,8	3,0	2,8	0,2			
T6	2,8	2,8	3,0	3,0	3,2	3,0	0,3	0,2		
T2	2,6	2,6	2,8	2,8	3,0	2,8	0,2	0,0	0,2	
CA	29	29	29	28	28	29	29	29	29	29

Variasi genetik dari 10 sampel dan satu *outgroup* dianalisis (Tabel 2). Analisis ini melibatkan total 11 urutan nukleotida. Untuk memastikan integritas data, semua posisi yang mengandung celah (*gap*) dan data yang hilang dieliminasi melalui opsi penghapusan lengkap (*complete deletion*), menyisakan 585 posisi dalam himpunan data akhir. Analisis evolusi dilakukan menggunakan perangkat lunak MEGA11 (Tamura, 2021). Hasilnya menunjukkan nilai jarak genetik antar sampel berkisar dari 0% hingga 3,2%. Jarak genetik terendah (0%) terdeteksi pada sampel T2 dan T8 (*Tor sp.* Cimanuk dan *Tor sp.* Kedung Minten) dan sampel N7 dan N10 (*Neolissochilus sp.* Samin dan *Neolissochilus sp.* Cimedang), menandakan identitas sekuens. Sebaliknya, jarak genetik maksimum sebesar 3,2% teramati antara sampel T6 dan T8 (*Tor sp.* Progo dan *Tor sp.* Brantas) dengan N3 (*Neolissochilus sp.* Tonjong), menyiratkan adanya diferensiasi genetik yang substansial, yang mengindikasikan T6 dan T9 (*Tor sp.* Progo dan Brantas) merupakan spesies yang berbeda dengan N3 (*Neolissochilus sp.* Tonjong). Selain itu, seluruh *Neolissochilus*

sp. dan *Tor* sp. menunjukkan jarak genetik yang konsisten (28–29%) terhadap sampel CA (*outgroup*). Temuan ini sejalan dengan Ward *et al.* (2009) yang menetapkan bahwa perbedaan

jarak genetik >2-3% pada penanda DNA ikan adalah indikator spesies yang berbeda.

Table 3. Genetic Distance of *Tor* sp. with *Tor* Species Genebank (%)

Tabel 3. Jarak Genetik *Tor* sp. dengan Spesies *Tor* Genebank (%)

No.	Nama Spesies	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1.	<i>T 9</i>																	
2.	<i>T 8</i>	0,2																
3.	<i>T 6</i>	0,4	0,2															
4.	<i>T 2</i>	0,2	0,0	0,2														
5.	<i>Tor tor ID40</i>	2,9	2,7	2,9	2,7													
6.	<i>Tor sinensis IHBCY0405392</i>	3,3	3,1	3,3	3,1	4,1												
7.	<i>Tor remadeviae MN378493</i>	3,5	3,3	3,5	3,3	4,1	3,3											
8.	<i>Tor putitora PG1</i>	2,4	2,2	2,4	2,2	2,0	3,5	3,1										
9.	<i>Tor mosal mahanadicus GQ469785</i>	2,5	2,4	2,5	2,4	2,2	3,3	3,3	0,9									
10.	<i>Tor mekongensis UNS00877</i>	0,5	0,4	0,5	0,4	2,7	2,7	2,9	2,2	2,0								
11.	<i>Tor khudree ToSTM1</i>	2,2	2,0	2,2	2,0	3,3	2,9	3,1	2,4	2,6	2,0							
12.	<i>Tor dongnaiensis UNS00889</i>	0,5	0,4	0,5	0,4	3,1	3,5	3,7	2,6	2,7	0,7	2,4						
13.	<i>Tor tambroides isolate DW</i>	2,7	2,6	2,7	2,6	3,1	3,1	3,7	2,9	3,1	2,6	3,1	2,9					
14.	<i>Tor tambra isolate Java S2</i>	0,2	0,0	0,2	0,0	2,7	3,1	3,3	2,2	2,4	0,4	2,0	0,4	2,6				
15.	<i>Tor tambra isolate TRG3 LL</i>	0,2	0,0	0,2	0,0	2,7	3,1	3,3	2,2	2,4	0,4	2,0	0,4	2,6	0,0			
16.	<i>Tor tambra isolate PHG5 LL</i>	0,2	0,0	0,2	0,0	2,7	3,1	3,3	2,2	2,4	0,4	2,0	0,4	2,6	0,0	0,0		
17.	<i>Tor douronensis DOFSMT7</i>	3,5	3,3	3,5	3,3	4,3	2,7	3,3	3,7	3,5	2,9	3,5	3,7	3,3	3,3	3,3	3,3	
18.	<i>Channa aurantimaculata COFAAEMMF20050</i>	29	29	29	29	28	28	31	28	29	29	29	28	29	29	29	29	29

Jarak genetik spesies antara *Tor* sp. dengan data spesies *Tor* Genebank pada Tabel 3. memperlihatkan bahwa jarak genetik setiap *Tor* sp. memiliki nilai dibawah 1% yang menandakan setiap sampel *Tor* sp. memiliki kekerabatan yang sangat dekat dan masih terdalem satu spesies yang sama. Jika dibandingkan dengan sampel spesies *Tor* dari *Genebank* semua sampel *Tor* sp. memiliki nilai genetik sama yang ditandai dengan warna kuning dengan spesies *Tor tambra* yang menandakan kemungkinan besar sampel *Tor* sp. merupakan *Tor tambra*. Pada *Tor mekongensis* dan *Tor dongnaiensis* sampel *Tor* sp. juga memiliki nilai genetik yang kecil ditandai warna hijau yaitu dibawah 1% yang menandakan sampel *Tor* sp. dengan kedua spesies ini memiliki kekerabatan yang dekat dan kemungkinan besar merupakan spesies yang sama dan tidak ada perbedaan secara genetik (Walton *et al.*, 2017). Sedangkan pada spesies *Tor* lainnya memiliki jarak genetik diatas 2% yang menandakan memiliki kekerabatan yang jauh dan bukan merupakan spesies yang sama (Ward *et al.*, 2009). Semua sampel *Tor* sp. memiliki nilai jarak genetik 28% sampai 31% dengan *Channa aurantimaculata COFAAEMMF20050*. Persentase jarak yang sangat tinggi ini menegaskan bahwa *Channa aurantimaculata* memiliki kekerabatan genetik yang sangat jauh dengan genus *Tor*, mengingat *Channa aurantimaculata* termasuk dalam famili Channidae yang secara filogenetik sangat berbeda dari famili Cyprinidae tempat genus *Tor* berada, jarak genetik yang signifikan ini mendukung perannya sebagai *outgroup* yang tepat dalam analisis filogenetik.

Tabel 4. memperlihatkan jarak genetik antara *Neolissochilus* sp. dengan spesies *Neolissochilus* dari *Genebank* memiliki nilai genetik yang sangat tinggi ditandai dengan warna kuning berkisar 4,6% sampai dengan 6%. Nilai genetik yang tinggi ini menandakan bahwa semua sampel

Neolissochilus sp. berkerabat jauh dengan spesies *Neolissochilus* lainnya dan tidak termasuk kedalam salah satu spesies *Neolissochilus* tersebut, hal ini sesuai dengan Ward *et al.*, (2009) yang menyebutkan bahwa perbedaan jarak genetik lebih dari 2 atau 3% merupakan spesies yang berbeda. *Channa aurantimaculata COFAAEMMF20050* yang dibandingkan dengan sampel *Neolissochilus* sp. memiliki jarak genetik 28% sampai dengan 30% yang menandakan bahwa perannya mendukung digunakan sebagai *outgroup* dalam analisis filogenetik. *Neolissochilus* sp. merupakan temuan baru dan dapat berpotensi menjadi sub populasi dari spesies *Neolissochilus soro* dengan genetik yang berbeda karena memiliki jarak genetik yang jauh atau berpotensi menjadi spesies baru yang belum teridentifikasi, karena kurangnya data sekuens tentang *Neolissochilus soro* disebabkan karena *Neolissochilus soro* yang sebelumnya merupakan spesies yang diklasifikan sebagai *Tor soro* membuat sulitnya analisis untuk dibandingkan dengan *Neolissochilus* sp. (Khaironizam *et al.*, 2015).

Analisis Kekerabatan Genetik

Hasil analisis kekerabatan genetik antara *Tor* sp. dan *Neolissochilus* sp. dianalisis menggunakan metode *Maximum Likelihood* dan model *Tamura-Nei* untuk melihat perbedaan dan kekerabatan antara *Tor* sp. dan *Neolissochilus* sp. dan *Channa aurantimaculata* yang digunakan sebagai *outgroup*. Metode *Maximum Likelihood* d menggunakan panjang cabang untuk merekonstruksi hubungan kekerabatan antarspesies. Cabang yang lebih panjang menandakan jarak evolusi yang lebih besar, sedangkan cabang yang lebih pendek menunjukkan hubungan kekerabatan yang lebih dekat (Fietri *et al.*, 2021).

Table 4. Genetic Distance of *Neolissochilus* sp. Sample with *Neolissochilus* Species Genebank (%)

Tabel 4. Jarak Genetik Sampel *Neolissochilus* sp. dengan spesies *Neolissochilus* Genebank (%)

No.	Nama Spesies	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1.	<i>N 10</i>																		
2.	<i>N 7</i>	0,																	
3.	<i>N 5</i>	0,	0,																
4.	<i>N 4</i>	2	2																
5.	<i>N 3</i>	0,	0,	0,	0,														
6.	<i>N 1</i>	4	4	6	6														
7.	<i>Neolissochilus stracheyi</i> isolate C2	0,	0,	1,	1,	1,													
8.	<i>Neolissochilus cf. soroides</i> TRG2	9	9	1	1	3													
9.	<i>Neolissochilus cf. soroides</i> PHG6	4,	4,	5,	5,	5,	5,												
10.	<i>Neolissochilus pnar</i> KUFOSF2022701	8	8	0	0	2	0												
11.	<i>Neolissochilus nigrovittatus</i> LC189738	5,	5,	5,	5,	5,	5,	2,											
12.	<i>Neolissochilus hexastichus</i> J6	2	2	4	4	2	4	6											
13.	<i>Neolissochilus hexagonolepis</i> COFAAUMU16	5,	5,	5,	5,	5,	5,	2,	0,										
14.	<i>Neolissochilus heterostomus</i> KIZGLGS07115	2	2	4	4	2	4	6	0										
15.	<i>Neolissochilus hendersoni</i> BIOPHPH01	4,	4,	4,	4,	4,	4,	4,	4,	4,									
16.	<i>Neolissochilus benasi</i> KIZYJ20080300 COI	4	4	6	6	4	6	6	6	6									
17.	<i>Neolissochilus baoshanensis</i> KIZ20100129	4,	4,	5,	5,	5,	5,	3,	3,	3,	3,								
18.	<i>Neolissochilus sumatranus</i> voucher BD1	8	8	0	0	8	0	8	8	8	0								
19.	<i>Channa aurantimaculata</i> COFAAEMMF20050	4,	4,	4,	4,	4,	4,	4,	4,	4,	0,	2,							
		6	6	8	8	6	8	4	4	4	6	8							
		5,	5,	5,	5,	5,	6,	5,	5,	5,	3,	4,	3,						
		0	0	2	2	0	0	2	2	2	3	5	1						
		5,	5,	5,	5,	5,	5,	1,	2,	2,	4,	3,	4,	5,					
		0	0	2	2	4	2	7	4	4	4	6	2	0					
		5,	5,	5,	5,	5,	5,	2,	0,	0,	4,	4,	4,	5,	2,				
		4	4	6	6	4	2	8	2	2	8	0	6	4	6				
		5,	5,	5,	5,	5,	5,	6,	6,	6,	4,	6,	5,	6,	6,	5,			
		4	4	6	2	4	2	4	0	0	8	0	0	6	2	8			
		4,	4,	5,	5,	5,	5,	1,	1,	1,	4,	3,	4,	4,	0,	2,	6,		
		8	8	0	0	2	0	5	9	9	6	4	4	4	9	1	0		
		5,	5,	5,	5,	5,	5,	2,	0,	0,	4,	4,	4,	5,	2,	0,	6,	2,	
		4	4	6	6	4	6	8	2	2	8	0	6	4	6	4	2	1	
		29	29	29	28	28	29	28	29	29	28	30	28	29	29	29	28	30	29

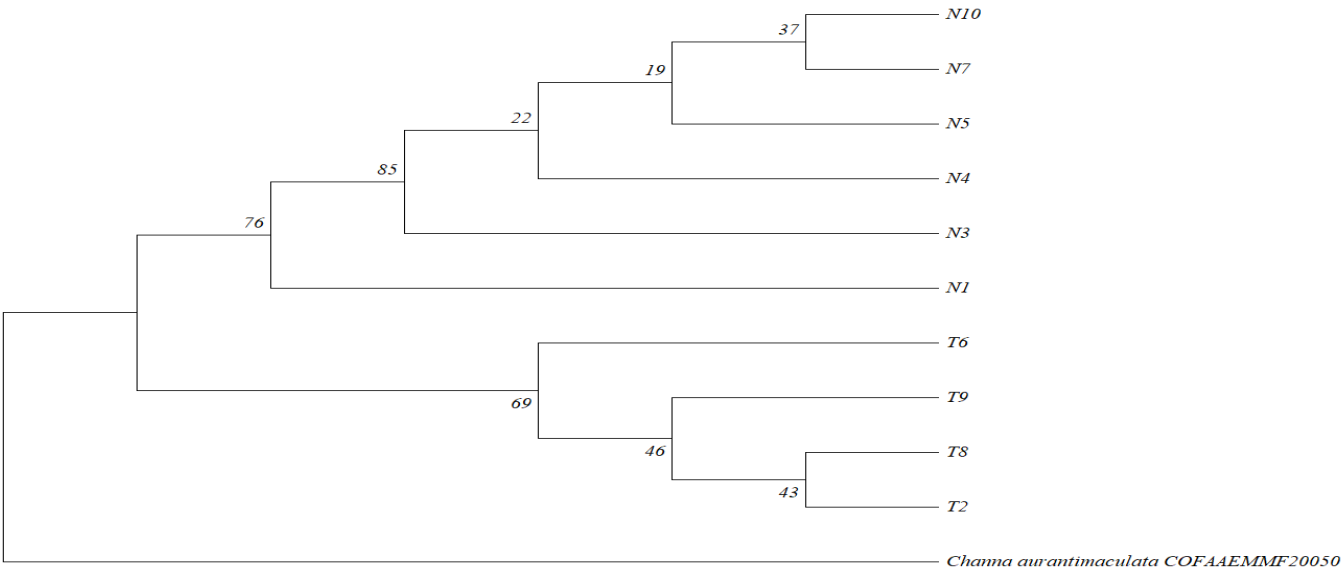


Figure 3. Phylogenetic Tree Using the Maximum Likelihood Method From Tor and Neolissochilus Based On Mitochondrial Sequence COI gene with 1000 Bootstrap Replicates.

Gambar 3. Pohon Kekerabatan dengan Metode Maximum Likelihood dari Tor dan Neolissochilus Berdasarkan Sekuens Mitokondria Gen COI dengan Replikasi Bootstrap 1000

Hasil analisis pada Gambar 3. di atas memperlihatkan kluster Neolissochilus dan Tor terpisah dengan jelas. Kluster Neolissochilus memperlihatkan bahwa N1 merupakan percabangan terluar yang terpisah dari (N3,N4,N5,N7, dan N10). Kemudian terbagi dengan (N3 dan N4) yang membentuk kluster yang sangat kuat dan didukung oleh nilai *bootstrap* 85 dan (N5,N7, dan N10) membentuk kluster namun nilai *bootstrap* 19 untuk percabangan ini bisa dikatakan sangat rendah, kemudian sampel N7 dan N10 menunjukkan percabangan yang sama tetapi juga memiliki nilai *bootstrap* 37 yang tergolong rendah.

Kluster Tor menunjukkan kekerabatan yang dekat dan terpisah dari kluster Neolissochilus. Sampel T6 merupakan cabang terluar memiliki nilai *bootstrap* 69 yang tergolong rendah dan memiliki cabang dengan (T2, T8, dan T9) yang membentuk sub-kluster. T8 dan T2 membentuk kluster yang sama akan tetapi memiliki nilai *bootstrap* 43 yang tergolong rendah, T9 yang membentuk cabang dengan T8 dan T2 juga memiliki nilai *bootstrap* 46 yang rendah.

Nilai *bootstrap* yang rendah pada Neolissochilus dan Tor menjelaskan bahwa secara *visual* kedua sampel berkelompok akan tetapi dukungan statistik untuk pengelompokan spesifik tersebut lemah dan tidak akurat. Pemisahan yang jelas antara Neolissochilus dan Tor

mengindikasikan adanya divergensi genetik yang signifikan di antara kedua kelompok ini, yang mungkin mencerminkan perbedaan populasi, spesies, atau bahkan varian genetik yang distinct secara geografis atau ekologis. Kehadiran *Channa aurantimaculata* COFAAEMMF20050 sebagai *outgroup* membantu dalam mengakar pohon dan mengidentifikasi arah evolusi, menegaskan bahwa semua Neolissochilus dan Tor lebih berkerabat satu sama lain dibandingkan dengan *outgroup* tersebut.

Nilai *bootstrap* merupakan nilai yang digunakan untuk menguji seberapa baik set data model yang digunakan, jika nilai *bootstrap* kecil maka sekuens dari analisis untuk mendapatkan pohon filogenetik menjadi tidak dapat dipercaya (Muthi'ah & Jannah, 2021). Nilai *bootstrap* yang bervariasi menunjukkan tingkat kepercayaan yang berbeda pada setiap percabangan, di mana nilai tinggi 76 dan 85 mengindikasikan dukungan kuat untuk percabangan tersebut, sementara nilai *bootstrap* yang lebih rendah yaitu 19, 37, 43, dan 46 menunjukkan adanya variabilitas dalam rekonstruksi topologi atau percabangan yang lebih baru dan mungkin kurang stabil secara statistik Pohon filogeni yang baik adalah pohon dengan nilai *bootstrap* di atas 70 (Subari *et al.*, 2021).

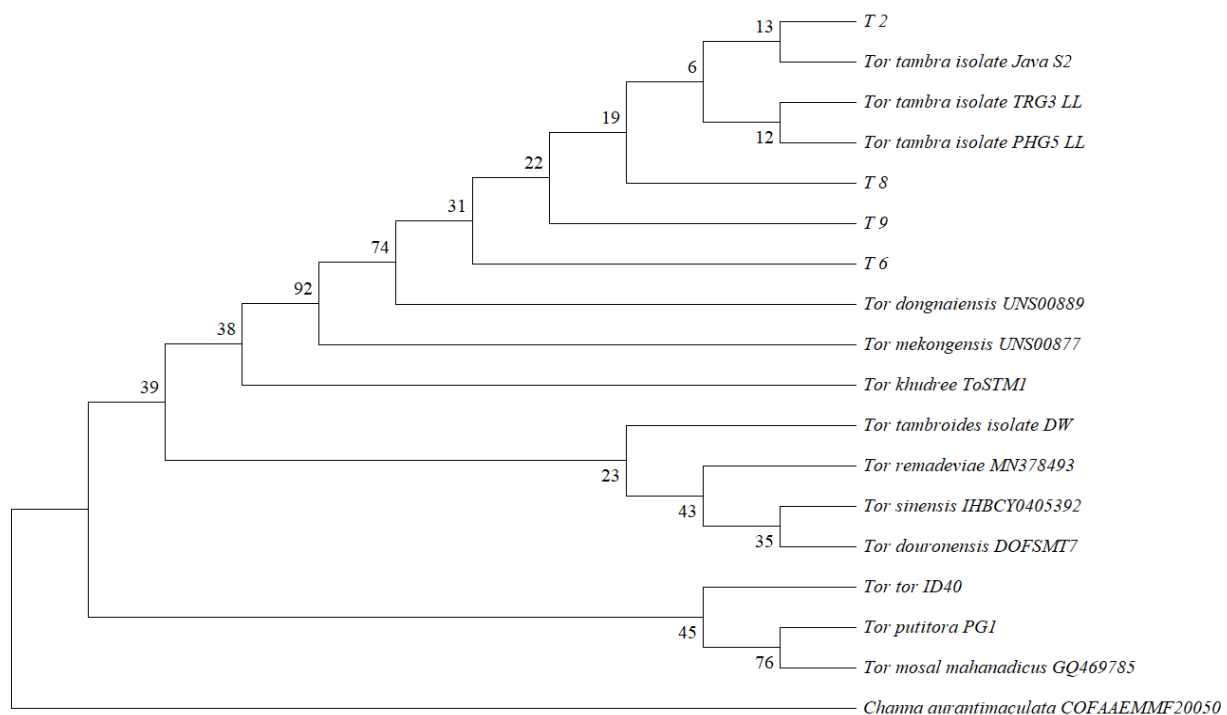


Figure 4. Phylogenetic Tree With Maximum Likelihood Method from *Tor* sp. Based On Mitochondrial COI Gene Sequences with 1000 Bootstrap Replications.

Gambar 4. Pohon Kekerabatan dengan Metode *Maximum Likelihood* dari *Tor* sp. Berdasarkan Sekuens Mitokondria Gen COI dengan Replikasi *Bootstrap* 1000

Hasil analisis pada Gambar 4. menunjukkan bahwa semua taksa *Tor* yang dianalisis membentuk kelompok monofiletik (klad) yang jelas, terpisah secara signifikan dari *Channa aurantimaculata*. Dalam kluster *Tor*, terdapat beberapa kelompok utama yang dapat diidentifikasi. Pada bagian atas pohon, terlihat kluster yang mencakup isolat-isolat *Tor tambra* (isolate Java S2, isolate TRG3 LL, dan isolate PHG5 LL),

bersama dengan *Tor* sp. Cimanuk, *Tor* sp. Kedung Minten, *Tor* sp. Brantas, dan *Tor* sp. Progo. Kluster ini secara keseluruhan memiliki dukungan *bootstrap* yang kuat (74 dan 92) dengan *Tor mekongensis* dan *Tor dongnaiensis* pada percabangan yang memisahkannya dari taksa *Tor* lainnya. Sebuah studi yang dilakukan oleh Hoang *et al.* (2015) yang menyebutkan bahwa *Tor tambra* dan *Tor mekongensis* tidak memiliki perbedaan

filogenetik dan tinjauan terbaru menyebutkan bahwa *Tor dongnaiensis* merupakan sinonim dari *Tor mekongensis*. Lebih spesifik, *Tor* sp. Cimanuk menunjukkan kekerabatan yang sangat dekat dengan *Tor tambra* isolate Java S2 (nilai *bootstrap* 13), sementara *Tor tambra* isolate TRG3 LL dan *Tor tambra* isolate PHG5 LL juga membentuk sub-klaster yang sangat dekat dengan nilai *bootstrap* 12. Hubungan *Tor* sp. Kedung Minten, *Tor* sp. Brantas, dan *Tor* sp. Progo dengan

kelompok *Tor tambra* ini didukung oleh nilai *bootstrap* 22 dan 31, meskipun nilai-nilai ini relatif rendah sehingga menunjukkan dukungan yang kurang kuat untuk hubungan spesifik tersebut dalam klaster yang lebih besar. Berdasarkan analisis pohon kekerabatan, sampel T dapat dinyatakan sebagai *Tor tambra* karena memiliki kekerabatan yang dekat dengan *Tor tambra* dari database walaupun memiliki nilai *bootstrap* yang rendah

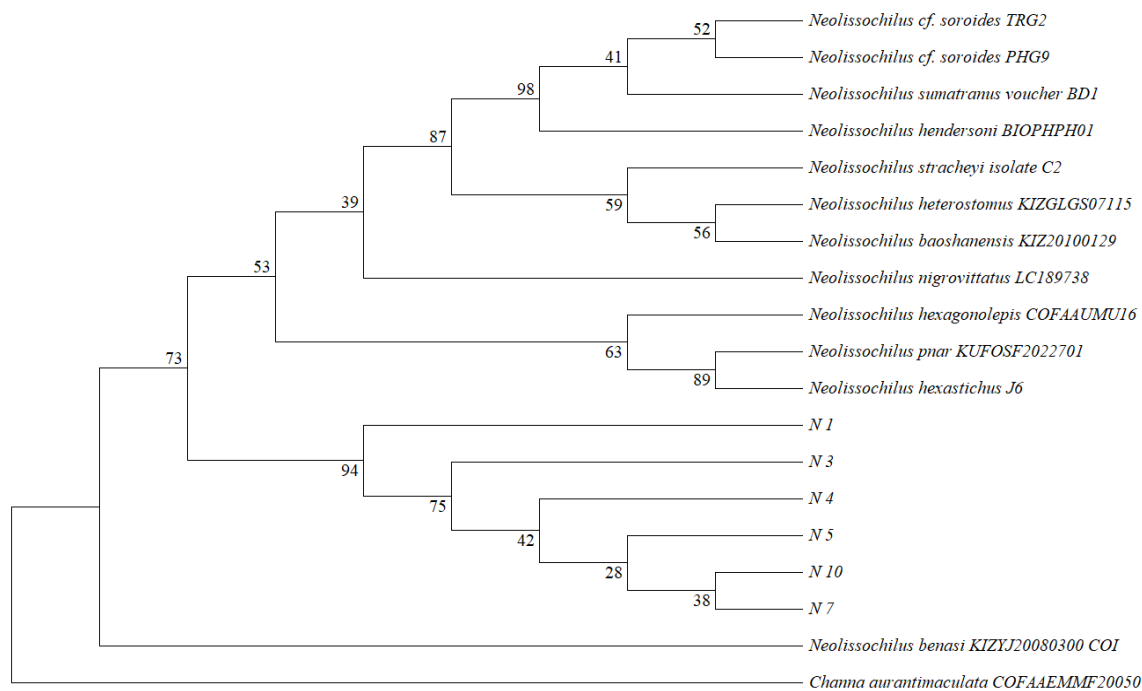


Figure 5. Phylogenetic Tree Using the Maximum Likelihood Method From *Neolissochilus* sp. Based On Mitochondrial Sequence COI Gene With 1000 Bootstrap Replicates.

Gambar 5. Pohon Kekerabatan dengan Metode *Maximum Likelihood* dari Sampel T Berdasarkan Sekuens Mitokondria Gen COI dengan Replikasi *Bootstrap* 1000

Hasil analisis pada Gambar 5. menunjukkan bahwa terbentuk 2 kelompok cabang utama dengan *Neolissochilus benasi* KIZIJ20080300 COI muncul sebagai garis keturunan yang paling basal di antara semua taksa *Neolissochilus* yang diuji, menunjukkan divergensi awal dari leluhur bersama genus ini, sebelum kelompok-kelompok lain mulai memisah. Ditemukan bahwa kelompok *Neolissochilus* sp. membentuk cabang dan klaster sendiri dengan nilai *bootstrap* 73 terhadap kelompok *Neolissochilus* lainnya, hal ini menandakan bahwa *Neolissochilus* sp. masih memiliki kekerabatan dengan *Neolissochilus* lainnya walaupun memiliki klaster yang terpisah dan jarak genetik yang cukup jauh.

Hasil yang ditemukan bahwa kelompok *Neolissochilus* sp. ini secara keseluruhan berkerabat erat dengan dukungan *bootstrap* 94 menunjukkan bahwa semua *Neolissochilus* sp. ini kemungkinan besar berasal dari satu garis keturunan *monofiletik* (klad) yang sama. Di dalam klaster, N1 (*Neolissochilus* sp. Sungapan) merupakan cabang paling basal. Selanjutnya, N3 dan N4 (*Neolissochilus* sp. Tonjong dan *Neolissochilus* sp. Ciwulan) membentuk pasangan yang berkerabat dekat dengan dukungan *bootstrap* 75. Selanjutnya N5, N7, dan N10 (*Neolissochilus* sp. Serayu, *Neolissochilus* sp.

Samin, dan *Neolissochilus* sp. Cimedang) membentuk sub-klaster lain, di mana N7 dan N10 (*Neolissochilus* sp. Samin, dan *Neolissochilus* sp. Cimedang) menunjukkan hubungan kekerabatan yang paling dekat dengan dukungan *bootstrap* 38 dan 28. Meskipun secara visual mereka berkelompok, nilai *bootstrap* yang rendah ini mengindikasikan dukungan statistik yang lemah untuk resolusi spesifik percabangan internal di antara N5, N7, dan N10 (*Neolissochilus* sp. Serayu, *Neolissochilus* sp. Samin, dan *Neolissochilus* sp. Cimedang). Hal ini berarti bahwa topologi di area ini mungkin tidak stabil dan bisa bervariasi.

KESIMPULAN

Ikan dewa yang didapatkan dari sungai di pulau Jawa terbagi menjadi dua klaster yaitu *Tor* dan *Neolissochilus*, keduanya tidak memiliki kekerabatan yang dekat secara molekuler baik dari jarak genetik maupun pohon kekerabatan. Semua *Tor* sp. memiliki kekerabatan yang dekat dan merupakan spesies *Tor tambra*. Sedangkan untuk *Neolissochilus* sp. yang diuji tidak menunjukkan kekerabatan yang dekat dengan spesies *Neolissochilus* yang ada pada data

GeneBank karena nilai jarak genetik yang tinggi dan analisis pohon kekerabatan membentuk kelompok tersendiri diluar kelompok *Neolissochilus GeneBank*. Temuan dari penelitian ini dapat dijadikan data terbaru tentang persebaran spesies ikan dewa di Pulau Jawa bagi penelitian selanjutnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih diberikan kepada Mina Kancra Ciburial yang telah memberikan satu sampel ikan dewa dan Laboratorium Bioteknologi Molekuler dan Mikrobiologi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjadjaran yang telah memfasilitasi terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Bhattacharjee, M. J., Laskar, B. A., Dhar, B., & Ghosh, S. K. (2012). Identification and Re-Evaluation of Freshwater Catfishes through DNA Barcoding. *PLoS ONE*, 7(11). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0049950>
- Desrita, D., Muhtadi, A., Tamba I. S., & Ariyanti, J. (2019). Morfometrik dan Meristik Ikan Tor (*Tor* spp.) Di DAS Wampu Kabupaten Langkat, Sumatera Utara, Indonesia. *Jurnal Pengelolaan Perikanan Tropis (Journal of Tropical Fisheries Management)*, 2(2), 68–74. <https://doi.org/10.29244/jppt.v2i2.26323>
- Fietri, W. A., Rasak, A., & Ahda, Y. (2021). Analisis Filogenetik Ikan Tuna (*Thunnus* spp.) di Perairan Maluku Utara Menggunakan COI (*Cytocrome Oxydase D*). *BIOMA: Jurnal Biologi Makassar*, 6(2), 31–39. <https://doi.org/10.20956/bioma.v6i2.14053>
- Haryono, H., & Subagja, J. (2008). The population and habitat of Tamba fish, *Tor tambroides* (Bleeker, 1854) in Muller Mountain waters Central Kalimantan. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 9(4), 306–309. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d090414>
- Hoàng, H. D., Pham, H. M., Durand, J. D., Trần, N. T., & Phan, P. D. (2015). Mahseers genera *Tor* and *Neolissochilus* (Teleostei: Cyprinidae) from southern Vietnam. *Zootaxa*, 4006(3), 551–568. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4006.3.8>
- Jaafar, F., Na-Nakorn, U., Srisapoom, P., Amornsakun, T., Duong, T. Y., Gonzales-Plasus, M. M., Hoang, D. H., & Parhar, I. S. (2021). A current update on the distribution, morphological features, and genetic identity of the southeast asian mahseers, tor species. In *Biology* (Vol. 10, Issue 4). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/biology10040286>
- Jusmaldi, J., Hariani, N., & Doq, N. (2019). Diversity, potentiality, and conservation status of fish fauna in the upper Mahakam's tributaries, East Kalimantan. *Jurnal Iktiologi Indonesia*, 19(3), 391. <https://doi.org/10.32491/jii.v19i3.471>
- Khaironizam, M. Z., Zakaria-Ismail, M., & Armbruster, J. W. (2015). Cyprinid fishes of the genus *Neolissochilus* in Peninsular Malaysia. *Zootaxa*, 3962(1), 139–157. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3962.1.7>
- Kottelat, M., Pinder, A. & Harrison, A. (2018). *Tor tambra*. *The IUCN Red List of Threatened Species* 2018: e.T188012A89801879. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2018-2.RLTS.T188012A89801879.en>. Accessed on 09 July 2025.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547–1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Larashati, S., Mayasari, N., Fitriana, Y. S., Wahyudewantoro, G., Widoretno, M. R., & Widiyanto, T. (2022). DNA Barcoding of *Neolissochilus sumatranus* and *Tor douronensis* to Support In Situ Conservation of Indonesian Mahseers. *HAYATI Journal of Biosciences*, 29(3), 370–377. <https://doi.org/10.4308/hjb.29.3.370-377>
- Larashati, S., Wahyudewantoro, G., Widoretno, M. R., Febrianti, D., Marnis, H., Barus, T. A., Sinuhaji, Y. S. C., Kusumah, R. V., Samir, O., & Widiyanto, T. (2025). DNA Barcoding Shows Taxonomic Uncertainty in North Sumatran Mahseer, *Neolissochilus*: towards Comprehensive Revision in Indonesia. *Sains Malaysiana*, 54(6), 1451–1464. <https://doi.org/10.17576/jsm-2025-5406-02>
- Leatemia, S.P., A.W. Manumpil, D. Saleky & M. Dailami. 2018. DNA barcode dan molekuler filogeni Turbo sp. di Perairan Manokwari Papua Barat. Prosiding Seminar Nasional MIPA UNIPA. 3 (1): 103-114. https://prosiding.fmipa.unipa.ac.id/index.php/SNMIPA_UNIPA/article/view/12.
- Lim, L. W., Chung, H. H., Lin Lau, M. M., Aziz, F., & Gan, H. M. (2021). Improving the phylogenetic resolution of *Malaysian and Javan mahseer* (Cyprinidae), *Tor tambroides* and *Tor tambra* : Whole mitogenomes sequencing, phylogeny and potential mitogenome markers. <https://doi.org/10.1101/2021.04.19.440536>
- Lumbantobing, D. (2021). *Neolissochilus soro*. *The IUCN Red List of Threatened Species* 2021: e.T188068A1850749. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2021-1.RLTS.T188068A1850749.en>. Accessed on 09 July 2025.
- Melda Roesma, D. I., Tjong, D. H., Munir, W., Agesi, A. V., & Chornelia, A. (2017). Genetic diversity of *Tor douronensis* (Pisces: Cyprinidae) in West Sumatra, Indonesia. *Biodiversitas*, 18(3), 1018–1025. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d180320>
- Muchlisin, Z. A., Fadli, N., Batubara, A. S., Nur, F. M., Irham, M., Muhammadar, A. A., Efizon, D., Elvyra, R., & Siti-Azizah, M. N. (2022). Taxonomic Diversity of the Genus *Tor* (Cyprinidae) from Aceh Waters in Indonesia Based on Cytochrome Oxidase Sub-Unit I (COI) Gene. *Zoodiversity*, 56(3), 195–202. <https://doi.org/10.15407/zoo2022.03.195>
- Muthi'ah, S. N., & Jannah, M. (2023). Analisis filogenetik pada spesies jeruk (*Citrus* sp.) berdasarkan sekuens ITS secara in silico. *BIO-SAINS: Jurnal Ilmiah Biologi*, 3(1), 62–66. <https://doi.org/10.34005/bio-sains.v2i2.2106>
- Pardosi, F. D., Anwari, M. S., & Diba, F. (2023). Keanekaragaman Jenis Ikan Air Tawar di Sungai Ella Hulu Desa Belaban Ella Kecamatan Menukung Kabupaten Melawi. *Jurnal Lingkungan Hutan Tropis*, 2(4), 541–549. <https://jurnal.untan.ac.id/index.php/jlht/index>
- Pinder, A., Katwate, U., Dahanukar, N. & Harrison, A. (2018). *Tor remadevii*. *The IUCN Red List of Threatened Species* 2018:

- e.T56096394A56717605. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2018-2.RLTS.T56096394A56717605.en>. Accessed on 09 July 2025.
- Rodrigues, M. S., Morelli, K. A., & Jansen, A. M. (2017). Cytochrome c oxidase subunit 1 gene as a DNA barcode for discriminating *Trypanosoma cruzi* DTUs and closely related species. *Parasites and Vectors*, 10(1). <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2457-1>
- Roesma, D. I., Chornelia, A., Mursyid, A., & Kamsi, M. (2016). Short communication: Fish diversity of the Batang Toru river system, South Tapanuli, North Sumatra. *Biodiversitas*, 17(2), 628–634. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d170235>
- Sawestri, S., & Marini, M. (2021). Diversity of fish fauna in the Sembakung river, North Kalimantan, Indonesia. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 919(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/919/1/012021>
- Steinke, D., & Hanner, R. (2011). The FISH-BOL collaborators' protocol. *Mitochondrial DNA*, 22(SUPPL. 1), 10–14. <https://doi.org/10.3109/19401736.2010.536538>
- Subari, A., Razak, A., & Sumarmin, R. (2021). Phylogenetic Analysis of *Rasbora* spp. Based on the Mitochondrial DNA COI gene in Harapan Forest. *Jurnal Biologi Tropis*, 21(1), 89–94. <https://doi.org/10.29303/jbt.v21i1.2351>
- Tamura, K., & Nei, M. (1993). *Estimation of the Number of Nucleotide Substitutions in the Control Region of Mitochondrial DNA in Humans and Chimpanzees*. <https://academic.oup.com/mbe/article/10/3/512/1016366>
- Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021). MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 38(7), 3022–3027. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
- Walton, S. E., Gan, H. M., Raghavan, R., Pinder, A. C., & Ahmad, A. (2017). Disentangling the Taxonomy of the Mahseers (*Tor* spp.) of Malaysia: An Integrated Approach Using Morphology, Genetics and Historical Records. In *Reviews in Fisheries Science and Aquaculture* (Vol. 25, Issue 3, pp. 171–183). Taylor and Francis Inc. <https://doi.org/10.1080/23308249.2016.1251391>
- Ward, R. D. (2009). DNA barcode divergence among species and genera of birds and fishes. *Molecular Ecology Resources*, 9(4), 1077–1085. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2009.02541.x>
- Wibowo, A., & Kaban, S. (2015). Genetic Variation of *Tor tambroides* (Bleeker, 1854) along Batang Tarusa River, West Samatera: Implications for stock Identification. *Indonesian Fisheries Research Journal*, 21(2), 61–66. <http://dx.doi.org/10.15578/ifrj.21.2.2015.61-66>
- Wu, L., Qin, T., Hoang, H. D., Oo, T. N., Wang, X. A., & Chen, X. Y. (2024). Molecular Systematics and Divergence of *Tor* and *Neolissochilus* Fishes (Cypriniforms: Cyprinidae) from Southeast Asia and South China. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 2024. <https://doi.org/10.1155/2024/5662867>